木兰科植物组织培养技术研究进展

宦智群 [1]，徐小蓉 [2]，耿兴敏 [1*]，唐明 [2]

（1. 南京林业大学 风景园林学院，南京 210037；2. 贵州师范大学 生命科学学院，贵阳 550001）

摘要：我国木兰科（Magnoliaceae）植物栽培历史悠久且种类丰富，具有很高的科研价值、观赏价值、生态价值与经济价值。但由于生境的破坏和自身繁殖能力的限制，木兰科许多种的生存受到威胁。传统繁殖方式繁殖效率低下，而组织培养技术是推进木兰科种质资源保存及开发利用的有效途径，可以应用于濒危资源保护、育种和无性系苗木的商业化生产中。木兰科植物的组织培养中无菌短枝扦插途径研究较多，体系已相对完善，一些种类的木兰科植物可以通过此途径得到生根苗；器官发生途径研究相对较少，愈伤组织诱导困难及不定芽分化困难的问题仍没有得到有效解决；体细胞胚发生途径在国内鲜有研究。该文从无菌短枝扦插、器官发生、体细胞胚发生等不同再生途径出发，分析了外植体类型、培养基类型、生长调节剂浓度、培养条件等方面对离体生长的影响，归纳了组培过程中生根困难与褐化等技术问题与解决措施，展望了木兰科植物组织培养技术未来的研究方向，以期为木兰科植物的组培快繁技术研究提供理论依据和技术参考。

关键词：木兰科，组织培养，生根，褐化，无菌短枝扦插

中图分类号：Q943.1 **文献标识码：**A

Advances in tissue culture techniques of Magnoliaceae

HUAN Zhiqun[1], XU Xiaorong[2], GENG Xingmin[1*], TANG Ming[2]

（1. *College of Landscape Architecture, Nanjing Forestry University*, Nanjing 210037, China; 2. *College of Life Sciences, Guizhou Normal University*, Guiyang 550001, China）

Abstract: Magnoliaceae plants have a long history of cultivation and China is rich in wild resources of them. Magnoliaceae plants have high scientific value, ornamental value, ecological value and economic value. However, the existence of many Magnoliaceae plants is threatened due to the limited reproductive capacity and habitat destruction. The traditional propagation method is inefficient. Tissue culture technology promotes the conservation and utilization of Magnoliaceae plants. It can be applied in the conservation of endangered resources, breeding and commercial production of clonal seedlings. There are many studies on the *in vitro* shoot propagation, and the system has been relatively perfect. Some studies can achieve rooting seedlings through this way. There are few studies on organogenesis, and the problems of callus induction and adventitious bud differentiation have not been solved effectively. Also, there are few studies on the somatic embryogenesis. This paper reviewed the research on different regeneration ways of Magnoliaceae plants such as *in vitro* shoot propagation, organogenesis and somatic embryogenesis. The influences of explant selection, basic medium selection, growth regulator concentration and

---

基金项目：贵州省科技支撑项目（[2020]4Y028）；黔科合重大专项字[2019]3001-5；江苏省高校品牌专业建设项目（PPZY2015A063）[Supported by the Guizhou Science and Technology Support Project（[2020]4Y028）; Key Project of Guizhou Science and Technology Cooperation（[2019]3001-5）; Brand Specialty Construction Project of Universities in Jiangsu Province（PPZY2015A063）]。

作者简介：宦智群（1996-），硕士研究生，研究方向为木兰科植物组织培养，(E-mail)2942235855@qq.com。

[*] **通信作者：**耿兴敏，博士，教授，研究方向为园林植物种质创新与生理生化，(E-mail)xmgeng76@163.com。

culture condition on *in vitro* growth of Magnoliaceae plants were discussed. Meanwhile, the paper summarized the problems and the solutions of rooting and browning, and prospected the future research directions. It will provide theoretical basis and technical reference for rapid propagation of Magnoliaceae plants.

Key words: Magnoliaceae, tissue culture, rooting, browning, *in vitro* shoot propagation

木兰科（Magnoliaceae）植物作为多心皮类植物的典型代表，是探索被子植物起源与发展演化的关键材料，科学研究价值极高；该科植物大多为春季观花木本，树形优美，叶、果、花具有较高的园林观赏价值（梁桂友等，2012；杨成华等，2017），常应用于工矿、居住区、道路、庭院绿化及公园绿地等方面(宋怀芬和刘会萍，2014），且它们可以作为工业用材、药材和香料树种（孔焱焱，2018），因此具有较高的经济价值。由于对木兰科分类系统和亲缘关系的认知分歧，其类群概念至今尚未统一，分类系统众多，目前国内普遍被大家接受且应用最多的是刘玉壶（1997）系统，本文也采用该分类系统。据不同分类系统统计，世界木兰科种类数目约为 240~300 种；《中国植物志》 (2004) 中记载中国有木兰科植物 11 属 107 种，《中国木兰》 (2004) 记载 11 属 178 种，*Flora of China*（2008）记载 12 属 112 种。我国木兰科的物种丰富度中心在云南、贵州、广西、湖南、广东等地，物种丰度由东南、西南地区向北、东北和西北逐渐减少。

虽然我国的木兰科植物种类丰富，但野生资源的匮乏与繁殖困难，严重限制了木兰科植物的推广栽培，其在园林中应用的种类十分有限（周盛楠，2007；谭秀梅等，2018）。木兰科中许多植物自然结实率低（向光锋等，2019），且人类活动破坏了原有生境，野生资源保存情况不容乐观。据《中国植物红皮书》（1991）记载，木兰科中被列为国家重点保护的珍稀濒危植物有 39 种之多，是被子植物中受到严重威胁种类最多的科；据《中国生物多样性红色名录 • 高等植物卷》（2013）记载，木兰科植物中存在易危（VU）40 种、濒危（EN）27 种、极危（CR）9 种、近危（NT）6 种、地区灭绝（RE）1 种。木兰科植物的有性繁殖存在发芽率低、种源欠缺的问题，常规无性繁殖中嫁接繁殖不适合工厂化育苗、扦插繁殖生根困难（王欢等，2013；张果等，2016）。

组织培养技术是木兰科植物资源保育及开发的有效途径，它可以通过组织器官离体保存保育植物种质资源，也可以通过工厂化育苗为园林绿化提供大量苗木以减少对野生资源的需求。我国木兰科植物的部分树种在建立优良再生体系方面取得了一定的进展，但研究种类有限，且鲜有应用于工厂化生产实践，组培过程中存在褐化、生根困难、愈伤组织再分化困难等技术问题。本文对木兰科植物不同的再生途径的相关研究进行论述，总结组培过程中普遍存在的褐化、生根困难等技术难题与解决措施，以期为木兰科植物高效的再生体系建立提供理论基础。

1 无菌短枝扦插途径

木本植物组织培养有无菌短枝扦插、器官发生、体细胞胚发生等再生途径。国内木兰科植物的组织培养中无菌短枝扦插途径研究较多，木兰属（*Magnolia*）、含笑属（*Michelia*）的部分种类已经建立了完整的再生体系，但种类有限，增殖系数低、褐化及生根困难等技术难题仍未得到解决；其他如木莲属（*Manglietia*）、拟单性木兰属（*Parakmeria*）等仅见个别种有研究，且大多处于初步探索阶段。

1.1 无菌体系的建立

外植体的选择、取材时间、处理方式、消毒方式是影响无菌体系建立的几个关键因素。

木兰科植物的无菌短枝扦插一般选取茎尖、带腋芽的幼嫩茎段、顶芽或侧芽作为外植体（表 1）。由于新生组织内含有的病菌以及酚类物质比在自然环境生长时间较长的植物材料少，因此，选取靠近枝条顶端的芽和茎段，这些部位污染率和褐化率相对低，存活率相对高

（朱碧华等，2009；Maria, 2012；唐军荣等，2014）。

外植体的取材时间极大程度地影响着组培苗的污染率、褐化率与启动率，需综合考虑三者来确定取材时期。一般来说，木兰科植物夏季（7—8 月）取材的外植体褐化严重（杜凤国等，2006；黄树军等，2013），休眠期(12 月至次年 1 月)取材的外植体污染率、褐化率相对较低（都婷等，2013；Maria, 2012），而春季蕾期阶段（5 月）采集的初代外植体形态发生能力强，启动率较高（Konopkova et al., 2020）。

外植体处理方式不同也会影响启动培养的结果。由于托叶会阻碍嫩芽的营养吸收、外层鳞片影响灭菌效果，故消毒前去除外层鳞片、消毒后去除托叶的顶芽外植体的启动速度、启动率、顶芽长势均好于对照（孟雪，2005；唐军荣等，2014）。此外，也有研究表明切掉叶柄的茎段外植体较之叶柄已自然掉落的茎段，腋芽萌发受到抑制且更易褐化（宁阳等，2015）。

芽、茎段外植体的消毒均以 0.1% $HgCl_2$ 为佳，灭菌时间要根据外植体的采集时间、幼嫩程度来确定，休眠期取材的外植体消毒时间应高于生长期取材的，幼嫩的外植体消毒时间应低于成熟的（都婷等，2013；王奇等，2009）。对于灭菌困难的种类，污染严重的可以鉴定其相关内生细菌，筛选适宜种类和浓度的抑菌剂添加至培养基中。

1.2 启动培养

基础培养基、生长调节剂是影响启动培养的关键因素。从表 1 可以看出，MS 培养基是木兰科植物芽和茎段启动培养的常用基础培养基。6-BA 的用量对芽的诱导及生长的影响极大，外植体的启动速度往往随 6-BA 浓度的增加而增加（都婷等，2013），最佳 6-BA 浓度取决于培养基中蔗糖/氮盐比，6-BA、蔗糖和氮盐水平不适合会导致褐化（Wojtania et al., 2015）。6-BA 的适宜浓度一般为 0.5~2 mg·L^{-1}，并与少量的 NAA（0.05~0.2 mg·L^{-1}）、IBA（0.05~0.2 mg·L^{-1}）等生长素配合使用（表 1）。启动培养中，一些种类可能存在腋芽活性较低的现象，仅添加 6-BA 不足以使芽生长，此时则需要加入适量的赤霉素（GA_3）(0.1~2 mg·L^{-1})来打破休眠、刺激芽的生长（Wojtania et al., 2016；Cui et al., 2019），其作用效果依赖于 MS 培养基中的蔗糖/氮盐比例(Wojtania et al., 2016)。

1.3 增殖培养

基础培养基、生长调节剂同样是影响增殖培养的关键因素。MS 培养基是最广泛用于木兰科植物增殖培养的基本培养基（表 1）。但不同木兰种和品种的增殖阶段对基本培养基组成的要求是基因特异性的（Konopkova et al., 2020），研究表明常用于葡萄离体繁殖的 VM 培养基与常用于核桃、白蜡、榆树等离体繁殖的 DKW 培养基能提高一些种类的增殖速率和芽的整体质量，与 MS 具有相似的作用，在木兰科植物的增殖阶段也有应用前景（Sokolov et al., 2014）。

目前最适合木兰科植物增殖培养的细胞分裂素是 6-BA，对多种木兰及栽培品种腋芽增殖效果显著（Parris et al., 2012； Sokolov et al., 2014），其最佳浓度因基因型的不同而不同，范围为 0.25 ~ 5 mg·L^{-1}（Wojtania et al., 2015）。但 6-BA 会导致某些木兰组培材料玻璃化，降低芽的质量，并抑制生根。MT（meta-Topolin）是一种与 6-BA 结构相似的细胞分裂素，可以减少木兰品种‘Ann’玻璃化苗的产生（Parris et al., 2012）。此外，苯基脲类细胞分裂素 CPPU 是 6-BA 生物活性的 10~100 倍且价格低廉，在其他植物的组培中广泛地被用于促进侧芽分化与植株生长（孙晓波等，2020），在木兰科植物中尚未见应用，可考虑与 mT、低剂量的纳米碳（冯璐等，2017）等作为 6-BA 的替代品，应用于木兰科植物的增殖培养。增殖培养期间，组培苗易褐化，需要注意在后期适当降低 6-BA 的浓度（Konopkova et al., 2020）并及时转瓶（周丽华等，2002）。

木兰科植物外植体的增殖能力具有基因型特异性（Sokolov et al., 2014），不同基因型的木兰科植物的增殖分化难易程度不一，在同样的培养基与生长调节剂条件下，二乔玉兰的增殖率明显高于白玉兰、紫玉兰（李艳等，2005），星花木兰腋芽的增殖率高于二乔木兰（Maria,

2012）。

1.4 生根培养

在木兰科植物的生根培养过程中，常通过降低无机盐浓度和调整基本培养基组成来促进生根，无机盐含量只需为增殖培养时的一半，即可满足生根培养所需养分（邓演文等，2018）。1/2MS 培养基是目前大多数木兰科植物选择的生根培养基。外植体的生根潜力可能受基础培养基组成的影响较小（Sokolov et al., 2014），白玉兰在 1/2MS 培养基以及 1/4MS 培养基中都能生根，两者的生根率和生根数差别不大（孟雪，2005）。

生长调节剂在根原基形成与生长中起关键作用，多数木兰科植物需添加生长素才会有较高的生根率，IBA 是最常用于木兰科植物生根培养的生长素（表 1），不同浓度的 IBA 能够调节产生的根系数量与长度（Kamenicka et al., 2000）。木兰离体生根明显依赖于 IBA 和蔗糖水平，且这两种水平在不同基因型之间是不同的，玉兰品种‘Elizabeth’、‘Burgundy’、‘Spectrum’在含有 6 $mg{\cdot}L^{-1}$ IBA 和 30 $g{\cdot}L^{-1}$ 蔗糖的 1/2MS 培养基上生根效果最好（Wojtania et al., 2019）。对于生根困难的种类，则通过改善生根培养的条件、改变生根的方式等技术措施来促进生根，具体方法于文章 5.2 部分详述。

1.5 培养条件

光照、温度、pH 值等培养条件是影响木兰科植物形态发生的重要因素，在木兰科组织培养中所选择的蔗糖浓度、pH、培养温度、光照强度以及光照时间相差不大，分别是蔗糖 20~40 $g{\cdot}L^{-1}$、pH 5.6 ~ 6.7（木兰科植物偏好碱性土壤），培养温度 23~28 ℃、光照强度 1 000~3 000 lx，光照时间为每天 10~16 h。

相关培养条件在不同培养阶段与不同基因型的植物中有所差异，有时需要具体探讨。例如蔗糖是木本植物组织培养中最常用的碳源（Wojtania et al., 2019），而 Kamenicka et al.（1998）发现果糖、甘露糖和木糖是二乔玉兰芽增殖最有效的碳源，其次才是蔗糖。培养基中常用的铁源是硫酸亚铁（$FeSO_4$），但 Sokolov et al.（2015）研究表明螯合铁 NaFeEDTA 和 Fe(III)AC 比非螯合铁 $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 更合适作为广玉兰和二乔玉兰增殖和生根培养基中的铁源。不同光质可能通过影响相应光受体的活性进而影响激素水平，从而影响植物的生长发育。红光可以促进地上部分生长，蓝光、远红光则可以促进地下部分生长（任桂萍等，2016），因此可以考虑在启动、增殖阶段使用红光、在生根阶段使用蓝光、远红光来促进组培苗的生长。

表 1 木兰科植物组织培养中无菌短枝扦插途径的研究

Table 1 Studies on *in vitro* shoot propagation of Magnoliaceae plants

种及品种 Species and cultivar	外植体 Explant	培养阶段 Culture stage	培养基 Medium ($mg{\cdot}L^{-1}$)	培养结果 Results	参考文献 References
木兰属 *Magnolia*					
白玉兰 *M. denudata*	休眠芽 Dormant bud	I、P	MS+6-BA 0.5+NAA 0.05		孟雪，2005
		R	1/2MS+IBA 0.2	RR 80%	
		T	腐熟土:细河沙(Rotten soil: Fine river sand)=3:1	TR 90%	
紫玉兰 *M. liliflora*	带芽茎段 Stem with axillary buds	I、P	MS+6-BA 1+NAA 0.1	PC 1.53	陆秀君等，2009
		R	MS+NAA 2+6-BA 0.1 暗培养(Dark culture)20 d 后转入 1/2MS	RR 35%	
紫玉兰 *M. liliflora*	顶芽、腋芽 Terminal bud, Axillary bud	I	MS+6-BA 0.1~1+KT 0.1~1		周丽华等，2002
		P	MS+6-BA 2+IAA 0.1	PC 4.02	
		R	1/2MS+IBA 2+NAA 0.2	RR 90%	
		T	河沙 River sand	TR 85%	
天女木兰 *M. sieboldii*	幼嫩茎段 Juvenile stem	I、P	B5+6-BA 0.5+IBA 0.3	IR 72%	杜凤国等，2006
		R	1/4MS+IBA 1+NAA 0.5	RR 70%	
		T	苔藓:蛭石(Moss: Vermiculite)=1:1	TR 85%	
星花木兰 *M. stellata*	顶芽 Terminal bud	I	LS+6-BA 0.7+NAA 1+GA_3 0.1+ASA 5+Vitamin		Maria, 2012
		P	MS+6-BA 0.5+Miller Vitamin	PC 10.7	
		R	1/2MS+LS Vitamin+GA_3 0.1+IBA 4	RR 90%	

二乔玉兰 *Magnolia* × *soulangiana*	腋芽 Axillary bud	I、P R T	S+IBA 0.07+NAA 0.03 1/2S+IBA 0.02~0.1 沙:泥炭（Sand: Peat）=2:1	 RR 96.2% TR 90%	Kamenicka et al., 2000
红花山玉兰 *M. delavayi*	茎尖、茎段 Shoot tips, Stem	I P	MS+6-BA 2+IAA 0.01+KT 1 MS +6-BA 0.5+NAA 0.01	获得不定芽 Obtained adventitious buds	王奇等，2009
广玉兰 *M. grandiflora*	幼嫩茎段 Juvenile stem	I P R T	1/2MS+ZT 3+NAA 0.2 1/2MS+6-BA 1+NAA 0.1 1/2MS+IBA 0.5 泥炭:珍珠岩(Peat: Perlite)= 3:1	IR 92% PC 3 TR 100%	王水燕等，2017
厚朴 *M. officinalis*	腋芽 Axillary bud	I、P R	1/2MS+6-BA 1+NAA 0.5 1/2MS+NAA 1	 RR 65%	金丽丽和张丽萍，2018
含笑属 *Michelia*					
峨眉含笑 *M. wilsonii*	顶芽 Terminal bud	I P R	MS+6-BA 1+NAA 0.2 MS+6-BA 0.3+ NAA 0.3 1/2MS+ NAA 0.5+ IBA 0.5	 RR 78%	闵炜和陈志萍，2007
醉香含笑 *M. macclurei*	茎段、茎尖 Stem, Shoot tips	I P R T	1/3MS+6-BA 0.2+NAA 0.02 1/3MS+6-BA 0.3+NAA 0.2 1/3MS+AC 300 1/4MS+IBA 2+NAA 3 沙:椰糠:泥炭土(Sand: Coconut bran: Peat)=2:2:1	 RR 93.2% TR 97.6%	李雪等，2005
乐昌含笑 *M. chapensis*	带芽茎段 Stem with buds	I、P R	MS+6-BA 1+IBA 0.1 1/2MS+6-BA 0.4+IBA 0.6+NAA 0.8	 RR 50%	吴月燕等，2007
紫花含笑 *M. crassipes*	带芽茎段 Stem with buds	I、P R T	MS+6-BA 0.5+IBA 0.1 1/2MS+NAA 3+6-BA 0.1 暗培养(Dark culture)15d，后转入 1/2MS 泥炭:珍珠岩:砻糠灰(Peat:Perlite: Rice chaff ash)=3:2:1	PC 3.5 RR 33% TR 85%	朱碧华等，2009
云南含笑 *M. ynnnanensis*	冬芽 Winter buds	I P 壮苗 Strong seedling	MS+6-BA 0.5~2+NAA 0.1~0.3 MS+6-BA 2+NAA 0.1 MS+6-BA 1+NAA 0.3	 PC 3.2	都婷等，2013
石碌含笑 *M. shiluensis*	茎段 Stem	I	1/2MS+6-BA 1+NAA 0.1	IR 79.6%	郑珂媛，2017
木莲属 *Manglietia*					
华木莲 *M. decidua*	带芽茎段 Stem with buds	I	MS+6-BA 1.5+IBA 0.1~0.2	芽难以诱导 Buds are difficult to induce	尤润等，2019
灰木莲 *M. glauca*	带芽茎段 Stem with buds	I P R	MS+6-BA 0.5+NAA 0.1 MS+6-BA 0.3+NAA 0.05+KT 1 1/2MS+NAA 2	IR 89.3% PC 2.7 RR 58.3%	乔梦吉，2013
单性木兰属 *Kmeria*					
单性木兰 *K.septentrionalis*	带芽茎段 Stem with buds	I	MS+6-BA 2+KT 2+2,4-D 0.5	IR 70%	杨梅等，2017
拟单性木兰属 *Parakmeria*					
云南拟单性木兰 *P. yunnanensis*	带芽茎段 Stem with buds	I P	MS+6-BA 0.5+2, 4-D 0.1+KT 0.5 1/2MS+6-BA 0.5+NAA 0.1+GA_3 0.1	获得不定芽 Obtained adventitious buds	甘露等，2010
云南拟单性木兰 *P. yunnanensis*	茎尖、带芽茎段 Stem with buds	I P R T	MS+6-BA 2+IAA 0.01+KT 1 MS+6-BA 0.5+NAA 0.01 1/2MS+NAA 0.5+IBA 3 蛭石 Vermiculite	 RR 80% TR 80%	陈芳等，2005
乐东拟单性木兰 *P. lotungensis*	带芽茎段 Stem with buds	I	MS+6-BA 0.2+IBA 0.05	获得不定芽 Obtained adventitious buds	宁阳等，2015
品种					
‘Ann’	腋芽 Axillary bud	I、P R	MS+6-BA 0.09 1/2MS+IBA 0.1+AC 1000	PC 3.2 RR 16%	Parris et al., 2012

'*Vulcan*'	带芽茎段 Stem with buds	I	MS+6-BA 1		Kim et al., 2020
		P	MS+6-BA 0.5	RR 91.3%	
		R	MS+IBA 6	TR 87.5%	

注：培养阶段 I、P、R、T 分别为启动、增殖、生根、移栽的英文缩写；相对应的培养结果 IR、PC、RR、TR 分别为诱导率、增殖系数、生根率、移栽成活率的英文缩写。

Note: The culture stages I, P, R, T were english abbreviation for initiation, proliferation, rooting and tansplanting; The corresponding results IR, PC, RR, TR were english abbreviation for induction rate, proliferation coefficient, rooting rate and transplanting survival rate.

2 器官发生途径

木兰科的器官发生途径的研究仍只限于木兰属、含笑属的少量种类，愈伤组织诱导困难及其不定芽分化困难的问题仍没有得到有效解决。木兰科植物的器官发生途径除个别通过叶片直接分化得到不定芽外（李艳等，2005），大多都是通过间接器官再生途径，先由外植体形成愈伤组织，再由愈伤组织分化为不定芽，下面主要介绍间接器官再生途径的研究概况。

2.1 愈伤组织诱导

木兰科植物可以通过营养器官（顶芽、茎段、叶片、叶柄）与繁殖器官（花托、花瓣、花药）等诱导出愈伤组织（表 2）。外植体来源不同，愈伤组织的诱导率也会不同。一般来说，顶芽和茎段较易诱导出愈伤组织，且愈伤组织生长状态较好。厚朴（*Magnolia officinalis* subsp. *officinalis*）不同取材部位的愈伤组织诱导率为茎段>顶芽>叶片（谢燕燕等，2017）；凹叶厚朴（*Magnolia officinalis* subsp. *biloba*）外植体脱分化形成愈伤组织的能力大小为顶芽及茎段>雌蕊>花被>雄蕊>托叶>叶柄（刘叶蔓等，2008）。

适宜的基本培养基对愈伤组织分化起着关键的作用。MS 培养基和 B5 培养基最常用于木兰科植物的愈伤组织诱导（表 2）。实验证明，MS 培养基适合大多数木兰科植物的多种外植体的愈伤组织诱导。而对于个别种类如厚朴、凹叶厚朴的芽、茎段、黄兰含笑（*Michelia champaca*）的叶柄等外植体，MS 培养基中 NH_4^+浓度较高，可能会对愈伤组织造成毒害，不利于其分化生长，B5 培养基更加适合其愈伤组织诱导（刘叶曼等，2008；黄树军等，2013；Shukla, 2014；谢燕燕等，2017）。

不同生长调节剂处理对愈伤组织的诱导率存在明显的差异，且诱导出愈伤组织的形态、生长状态、色泽等随生长调节剂种类及配比的不同而异（何培琦等，2010）。2,4-D（1~5 mg·L^{-1}）、6-BA（1~5 mg·L^{-1}）是木兰科植物的愈伤组织诱导中常用的细胞分裂素（表 2）。适宜浓度的 2,4-D 或 6-BA 诱导愈伤组织所需时间短且愈伤组织生长良好（黄树军等，2013；Shukla，2014）。6-BA 与 2,4-D 或 KT 同时使用能提高诱导率和愈伤组织的质量。罗在柒等（2010）对紫玉兰的不同外植体进行愈伤组织诱导，从诱导率和增殖系数来看，2,4-D 4 mg·L^{-1}+6-BA 1 mg·L^{-1} 的组合下诱导效果比较理想；而墨西哥大叶木兰（*Magnolia dealbata*）叶片外植体在 MS+2,4-D 1.5 mg·L^{-1} +KT 1.5 mg·L^{-1} 的培养基上，获得绿色、致密的愈伤组织（Dom ńguez et al., 2010）。

在培养条件的选择中，暗培养比光培养更有利于一些木兰科植物的愈伤组织的形成和生长。暗培养下的日本厚朴（*Magnolia obovata*）顶芽外植体比光培养先诱导出愈伤组织，且在相同时间内，愈伤组织鲜重增长量大于光培养（付晓云等，2009）。黑暗环境中厚朴顶芽外植体的愈伤组织诱导率比光照条件下高，且产生的愈伤组织形态结构也较好；可能是光照有利于多酚类物质的积累，多酚类物质和酚氧化酶产生化学反应，产生有害的醌类物质，导致外植体死亡（何培琦等，2010）。

2.2 愈伤组织的再分化

木兰科植物的愈伤组织再分化较困难（表 2），很多外植体诱导出的愈伤组织质地松软或褐化严重，最终未能分化成芽。木兰科植物愈伤组织能否分化出芽器官，与所用的基本培

养基有关。吴月燕和袁东明（2001）比较了 MS、MS’、1/2MS、GS 培养基对乐昌含笑叶片愈伤组织再分化的影响，结果表明 MS’培养基是愈伤组织再分化的最佳培养基。

愈伤组织的再分化受细胞分裂素与生长素的浓度与配比影响。GA_3 是促使愈伤组织分化为芽的有效途径，常与分裂素 6-BA、2,4-D、KT 等配合使用。在 MS+6-BA 0.6 mg·L^{-1} +GA_3 0.5 mg·L^{-1} 培养基上，天女木兰嫩茎愈伤组织成功分化成芽（孙铭鸿等，2012）；在 MS’+6-BA 1mg·L^{-1}+ GA_3 2 mg·L^{-1} 培养基上，乐昌含笑叶片愈伤组织再分化成芽的比率最高（吴月燕和袁东明，2001）。

未来对于木兰科植物愈伤组织再分化困难的问题，首先应当探索更多用于诱导愈伤组织的外植体种类，同时致力于抑制愈伤组织的褐化，确保得到的愈伤组织颜色良好，质地紧密，其次再进一步探索基本培养基与生长调节剂对于愈伤组织分化的影响。

表 2 木兰科植物组织培养中器官发生途径的研究

Table 2 Studies on organogenesis of Magnoliaceae plants

种及品种 Species and cultivar	外植体 Explant	培养阶段 Culture stage	培养基 Medium (mg·L^{-1})	培养结果 Results	参考文献 References
木兰属 *Magnolia*					
天女木兰 *M. sieboldii*	嫩茎 Juvenile stem	C B R	MS+ZT 0.4+2,4-D 2.5 MS+GA_3 0.5+BA 0.6 1/3MS+IBA 0.6+0.8 DA-6 0.5+NAA 0.5	IR 78% DR 64% RR 78%	孙铭鸿等，2012
广玉兰 *M.grandiflora*	叶芽 Vegetative bud	C	MS+2,4-D 4.5+NAA 3+ 6-BA 1.2+AC 800	IR 100%	谭泽芳等，2003
广玉兰 *M. grandiflora*	花托、叶芽 Torus,Vegetative bud	C	MS+2,4-D 4+6-BA 1+NAA 4	IR 100%	王琪等，2001
凹叶厚朴 *M.officinalis* subsp. *biloba*	茎段 Stem	C	B5+2,4-D 2+6-BA 1	IR 91.7%	谢燕燕等，2017
厚朴 *M. officinalis*	嫩茎 Juvenile stem	C	B5+6-BA 3+2,4-D 3	IR 70.7%	黄树军等，2013
墨西哥大叶木兰 *M. dealbata*	嫩叶 Young leaves	C B R	MS+2,4-D 1.5+KT 1.5 MS+TDZ 1.5+AC 250 MS+IAA 0.5	IR 95%	Dom ńguez et al., 2010
紫玉兰 *M.liliflora*	幼嫩花瓣 Tender petals	C	MS+6-BA1+NAA 0.5	IR 31.1%	赵松峰，2009
白玉兰 *M. denudata*	花药 Anther	C	MS+6-BA 1+NAA 3	得到愈伤组织 Obtained callus	李桂荣等，2013
含笑属 *Michelia*					
深山含笑 *M. maudiae*	上下胚轴 Epicotyl,Hypocotyl	C B R T	MS+2,4-D 2+BA 3+NAA 0.2 MS+BA 2+NAA 0.2 1/2MS+NAA 0.5 塑料泡沫:椰糠:河沙(Plastic foam: Coconut bran: River sand)=2:2:1	IR 95% DR 40% TR 92%	曾宋君等，2000
乐昌含笑 *M. chapensis*	嫩叶 Young leaves	C B	1/2MS+NAA 0.5 MS+GA_3 2+6-BA 1+IAA 0.1	IR 96.7% DR 71%	吴月燕和袁东明，2001
乐昌含笑 *M. chapensis*	茎段 Stem	C	MS+6-BA 1.5+NAA 0.5+PVP 250	IR 50%	陈卫军等，2005
云南含笑 *M.yunnanensis*	嫩叶 Young leaves	C	MS+6-BA 1+NAA 0.1	IR 60%	刘芳等，2011
黄兰含笑 *M. champaca*	叶轴 Rachis	C	1/2MS+2,4-D 0~1.1+6-BA 0.02~0.2	得到愈伤组织 Obtained callus	Lai & Lee,1994
黄兰含笑 *M. champaca*	叶柄 Petiole	C	B5+2,4-D 8	IR 38%	Shukla, 2014
黄兰含笑 *M. champaca*	腋芽 Axillary bud	C	MS+IAA 0.1+ 2,4-D 0.1	得到愈伤组织 Obtained callus	Abdelmageed et al., 2012
木莲属 *Manglietia*					
华木莲 *M. decidua*	叶 Leaves	C	MS+6-BA 1.5+IBA 0.15	IR 38%	尤润等，2019

注：培养阶段 C、B、R、T 分别为愈伤诱导、芽分化、生根、移栽的英文缩写；相对应的培养结果 IR、DR、

RR、TR 分别为诱导率、分化率、生根率、移栽成活率的英文缩写。

Note: The culture stages C, B, R, T were english abbreviation for callus induction, bud differentiation, rooting and transplanting; The corresponding results IR, DR, RR, TR were english abbreviation for induction rate, differentiation rate, rooting rate and transplanting survival rate.

3 体细胞胚培养

体细胞胚诱导培养国内相关研究较少，仅有杂交鹅掌楸（*Liriodendron*×*sinoamericanum*）的体细胞胚培养的研究见于报道。陈金慧（2003）以杂交鹅掌楸幼胚为外植体，以蔗糖为渗透剂提高渗透压，在 MS+1~4 mg·L^{-1} 培养基上有效诱导出体细胞胚。体胚发生初期添加 0.1 mg·L^{-1} 的磺肽素(PSK)可提高未成熟胚的脱分化率并能有效改善培养细胞的状态；0.5 mg·L^{-1} 的 PSK 能够促进胚性愈伤组织的形成和增殖（陈金慧等，2013）。1 μmol·L^{-1} 的茉莉酸甲酯（MeJA）可以提高杂交鹅掌楸的体胚发生率和成熟率、降低畸形胚发生率，2 mg·L^{-1} ABA 能够增强 MeJA 的上述效应（成铁龙等，2017）。

国外对木兰科中木兰属植物胚状体的培养研究相对较多。幼胚是木兰科植物适宜的体胚发生外植体，弗吉尼亚木兰 (*Magnolia virginiana*)、福来氏木兰(*M. fraseri*)、尖头木兰（*M. acuminata*）、金字塔玉兰（*M. pyramata*）和北美大叶木兰（*M. macrophylla*）、墨西哥大叶木兰、日本厚朴、黄兰含笑都通过未成熟种子成功诱导出体细胞胚（Merkle & Wiecko, 1990; Merkle & Watson, 1993, 1994; Rosas et al., 2006; Kim et al., 2007; Armiyanti, 2012; Park et al., 2012; Cortazar et al., 2020）。

基因型、培养基和发育时期等是影响体细胞胚发生的关键因素。体细胞胚诱导培养一般选择在添加一定浓度 2,4-D（0.01~1 mg·L^{-1}）的 WPM 培养基上进行（Kim et al., 2007; Armiyanti, 2012; Cortazar et al., 2020）。有机附加物是木兰科体胚诱导所必需的营养物质，酪蛋白水解物、谷氨酰胺常被添加至诱导培养基中。未成熟种子最佳采集时间为花后 3~4 周；培养基中添加蔗糖比添加葡萄糖更利于体细胞胚的形成，蔗糖的最适添加量为 3%（Kim et al., 2007）。

成功诱导出的体细胞胚往往转移到无激素的培养基上继续萌发成苗，黄兰含笑体细胞胚在 MS 培养基上萌发率为 34%（Armiyanti, 2012），日本厚朴体细胞胚在 1/2MS 培养基上萌发率在 80%以上，并形成正常的初生叶和根（Park et al., 2012）。

体细胞胚培养存在的问题是体胚诱导率和分化成苗率都很低，成功诱导出的体细胞胚中还有相当一部分是不能发育成苗的畸形胚（Merkle & Wiecko, 1990; Merkle & Watson, 1993, 1994; Kim et al., 2007），这需要在今后的研究中进一步探索。

4 胚培养

木兰科植物的胚培养大多是幼胚培养。由于带种皮的种胚消毒不易彻底，因此接种前必须剥去种皮。幼胚灭菌时，相较于带外种皮与中种皮的种子，只带内种皮的种子污染率更低（徐石等，2008）。0.1% $HgCl_2$ 消毒醉香含笑（*Michelia macclurei*）种胚 6～9 min，能获得 60 %～65 %无菌且可萌发的外植体（刘英， 2021）。天女木兰种子采用 75 %酒精 30 s+NaClO 10 min 灭菌效果最佳，存活率达 48%（于新杰，2016）。

在基本培养基的选择方面，B5 培养基较为适宜，由于其含有幼胚生长所需的 Ca^{2+}、K^{+} 等大量元素和微量元素（杜凤国等，2006；于新杰，2016）。而在植物生长调节剂的选择方面，6-BA 显著影响芽的增殖。6-BA 和 NAA 较 ZT、KT、IBA、2,4-D、IAA 更适合白玉兰幼胚离体培养中的增殖培养。天女木兰幼胚离体培养的最适增殖培养基是 B5+6-BA 2 mg·L^{-1}+NAA 0.04 mg·L^{-1}+IBA 0.5 mg·L^{-1}+AC 1 g·L^{-1}，增殖系数超过 3.6（陆秀君等，2008）。适合凹叶厚朴增殖的培养基为 MS＋6-BA 2.5 mg·L^{-1}＋NAA 0.5 mg·L^{-1}，增殖系数可达 6.2（马英姿等，2014）。由于木兰科植物种子中酚类物质含量较多，易出现褐化，故培养基中往往

加入 AC（陆秀君等，2008）或者 4～8 g·L^{-1}浓度的聚乙烯吡咯烷酮（PVP）（刘英，2021）来抑制。

木兰科植物成熟种子有比较长的休眠期，由于休眠延长了种子的萌发进程，因此直接利用木兰科植物成熟种子启动离体培养的研究相对较少。仅见的报道是 Sokolov et al.（2014）对广玉兰和二乔玉兰的研究，具体的做法是先对种子层积处理 30 d 和 90 d 后再进行离体培养，其种子萌发培养基为 MS+6-BA 0.5 mg·L^{-1}，萌发植株生长良好，层积处理后的种子在离体条件下的发芽率和成活率均好于直接播种。

5 技术难点

5.1 褐化

褐化在木兰科植物组培的过程中普遍存在，外植体的褐化影响了多种木兰科植物芽的萌发、愈伤组织的增殖与分化（刘均利和马明东，2007；刘叶蔓等，2008），导致组培的效率不高，限制了组培苗大规模的生产（周丽艳等，2008；王欢等，2012）。对于木兰科植物易褐化的问题，前人通过外植体类型、采条季节的选择、外植体的预处理方式、添加抗氧化剂、暗培养等多种方法加以抑制，取得了比较好的效果。

(1)外植体类型的选择：由于不同外植体中的多酚氧化酶（PPO）与酚类物质各异，因此选择低 PPO 活性或低酚类含量的外植体可以有效降低褐化程度。如天女木兰的侧芽作为外植体，褐化程度较之其他部位要低（徐石等，2008；王欢等，2012）。

(2)采条季节：植物在不同季节的代谢活动有强弱，PPO 的活性有所不同，如白玉兰外植体在春、冬两季取材 PPO 活性较低，褐化率较低（周丽艳等，2008；王欢等，2012）。

(3)外植体的预处理方式：接种前的预处理包括浸泡外植体与低温预处理，如在清水中浸泡 12 h 以上（王奇等，2009）、在 1 g·L^{-1} 维生素 C（VC）或 PVP 溶液中浸泡 4~6 h（王欢等，2012；王倩颖等，2017）、4 ℃低温预处理 5~7 d（朱碧华等，2009）、8 ℃低温暗培养 4 d（刘均利和马明东，2007）都可以有效减轻褐化。

(4)暗培养：黑暗环境可以抑制 PPO 的活性，因此，培养初期一定时间的暗培养可以降低褐化率（周丽艳等，2008；王欢等，2012）。

(5)培养基类型：培养基中 NH_4^+浓度过高可能会导致褐化，如相较于高浓度 NH_4^+的 MS 培养基，B5 培养基降低了天女木兰外植体的褐化率（王欢等，2012）。

(6)植物生长调节剂：6-BA、KT 等细胞分裂素不仅能促进酚类化合物的合成，而且还能刺激 PPO 的活性。6-BA 对二乔玉兰的芽中酚类物质的产生有调节作用，随着 6-BA 浓度的升高（0.2~1 mg·L^{-1}），酚类物质含量呈上升趋势（Wojtania et al., 2015）。

(7)添加抗氧化剂、吸附剂：向培养基中添加适宜浓度的抗氧化剂如柠檬酸（CA）、VC、硝酸银（$AgNO_3$）等或吸附剂如 PVP、AC 等能有效抑制褐化。CA 通过降低 POD 活性或结合培养基中的金属离子抑制多酚氧化酶（PPO）的活性，防止酶促褐变；$AgNO_3$ 通过降低 MS 培养基中易引起酚类物质的产生的 NH_4^+来抑制褐变。AC、PVP 则是通过吸附外植体产生的醌类物质来抑制褐变。适宜的抗褐化剂因基因型与外植体种类而异（王倩颖等，2017），$Na_2S_2O_3$、CA 对白玉兰外植体的抑褐效果好于 PVP、VC（周丽艳等，2008）；PVP、VC 对天女木兰外植体抗褐化效果更好（王欢等，2012；高红兵等，2017）。景宁木兰（*Magnolia sinostellata*）叶片最佳抗褐化剂为 $AgNO_3$，而带芽茎段和根部的最优抗褐化剂为 CA（王倩颖等，2017）。此外，过高浓度的 PVP 和 AC 会抑制芽的增殖和根的形成（Parris et al., 2012），因此需要探索抗褐化剂的适宜浓度。一般 VC 使用的最适浓度为 500 mg·L^{-1}，PVP 最适浓度为 1 000~1 500 mg·L^{-1}，CA 最适浓度为 300 mg·L^{-1}（高红兵等，2017），AC 浓度以 0.5 %为佳（曾宋君等，2000；陆秀君等，2008）。

目前木兰科植物组培的褐化问题主要通过在培养基中添加抗褐化剂来抑制，除了上述提

到的抗褐化剂外，抗氧化剂一类中的植酸、L-半胱氨酸、甘露醇、血清白蛋白等未见应用于木兰科植物的组培，可在未来的实验中尝试。此外，螯合剂乙二胺四乙酸二钠（EDTA）可替代蛋白质与多酚氧化酶类进行螯合，减少酚的氧化作用；PAL 抑制剂 2-氨基胅-2-膦酸（2-aminoindane-2-phosphonic acid，AIP）可以通过抑制苯丙氨酸生物合成从而减少褐变（Jones & Saxena, 2013）；表没食子儿茶素没食子酸酯（EGCG）可以通过抑制 PPO 以抑制褐变（Saeleaw et al., 2017）；高剂量的纳米碳也可防止褐化现象（冯璐等，2017）。这些不同抗褐化剂对于褐化的抑制效果，都应该成为未来研究的内容。

5.2 生根困难

木本植物组织培养普遍存在生根困难问题，如紫花含笑组培苗生根率仅有 33%（朱碧华等，2009）、紫玉兰带芽茎段组培苗生根率也仅有 35%（陆秀君等，2009），玉兰品种‘Ann’的生根率只有 16%（Parris et al., 2012），有些种类甚至无法生根而只能进行到增殖培养阶段（郑珂媛，2017；杨梅等，2017；尤润等，2019）。

基因型、树种的产地、培养条件等都可能是影响生根的因素，前人通过改善生根培养的条件、改变生根的方式等技术措施来促进生根。可以调节培养基中的生长调节剂种类、浓度等促进生根：难以生根的木兰品种‘黄鸟’可以通过降低其生根培养基中的蔗糖浓度(20 g·L^{-1})来促进有效生根（Wojtania et al., 2019）；添加低浓度的 AC 可优化生根效果（陈金慧和施季森，2002；Parris et al., 2012）；添加适宜的生根剂如新型植物活性剂 DA-6 有利于天女木兰组培苗生根（孙铭鸿等，2012）。对于生根类型为诱导生根型的一些木兰科植物如紫花含笑（宋晓琛等，2014），可以适当调整培养基成分，先诱导出愈伤组织，可以促进其不定根的形成。改变生根方式如试管外生根、浸泡生根法也是提高生根率的途径，如郭治友（2008）利用试管外生根将杂交鹅掌楸组培苗的生根率提高至 83.3%以上。此外，间歇浸没式培养系统是近年来发展起来的一种植物组织培养系统，较之传统的固体培养，具有培养周期短、增殖率高、自动化程度高、培养通量大等特点（张杰等，2020），利用此系统或可促进生根。

6 研究展望

我国木兰科植物的组织培养研究中，无菌短枝扦插途径的再生体系已相对完善，从灭菌到启动、增殖、生根的培养基与生长调节剂的选择已有大量研究，但研究的植物种类有限。由于顶芽、茎段相较于其他外植体易于获得，且诱导率高，无菌短枝扦插途径作为木兰科植物的组织培养的主要再生途径，应考虑将更多具有优良特性的野生种质资源纳入研究范围。

器官发生途径、体细胞胚发生途径研究相对尚浅，器官发生途径中选择的外植体类型有限，其他植物中最常用于诱导愈伤组织的叶片却因为褐化而难以诱导愈伤，且仅有极少的种类能诱导愈伤组织再分化为芽。体细胞胚发生途径在国内鲜有研究，且存在体胚诱导率和分化成苗率低的问题。此外，木兰科植物组培中普遍存在褐化与生根困难的技术难题没有从根源上得到解决，这也限制了组培苗的大批量繁殖。

针对上述问题，未来木兰科植物的组织培养需围绕以下几个方面展开重点研究。（1）全面探索木兰科不同植物种类的组织培养，特别是木兰属、含笑属以外的种类，通过组培的技术手段，保存更多珍稀濒危的野生种质资源；对于已经建立再生体系的品种，可进一步优化再生培养条件，提高再生效率，以备工厂化育苗之需；（2）探索更多种类的外植体的离体再生，尝试雄蕊、雌蕊、花被、花柱、花托、子房、叶柄、根等不常见的外植体种类；（3）增殖系数普遍较低的问题：可以通过研究增殖期间内源激素的变化以确定适宜的外源激素浓度与配比，并考虑环境因子如温度、光照对于增殖的影响；（4）褐化问题，在探讨外植体类型与取材时期、预处理方式、不同种类的抗氧化剂、吸附剂对于褐化的抑制效果之外，应结合酚类物质、PPO 等相关酶的活性测定，鉴定褐化反应的底物，继而研究组培褐化的分子调控机制，进一步揭示褐化机理，进而通过改变相关基因的表达从根源上减少褐化；（5）

生根困难问题，可以通过改善生根培养的条件、改变生根的方式、添加适宜的生根剂来促进生根，并对生根的组培苗生理生化指标进行分析，在此基础上进行解剖学观察，判断生根类型，进行生根机理研究。（6）体细胞胚胎培养作为再生途径之一，可以克服生根困难的问题，但在国内却鲜有研究，应作为未来探索的重点。

在组培技术的应用方面，木兰科植物中珍稀濒危的种类众多，虽然少数种诸如景宁木兰（*Magnolia sinostellata*）、华木莲等的组织培养已有初步研究（王倩颖等，2017；尤润等，2019），也有结合液滴玻璃化技术低温保存‘Ashei’木兰 (*M. macrophylla* var. *ashei*)离体茎尖的例子(Folgado & Panis, 2019)，但木兰科更多的濒危物种的种质资源有待利用组培技术保存。木兰科中一些种类如厚朴和凹叶厚朴等具有重要的药用价值，其组织培养和高产细胞系建立能够为批量生产中药材原料药和厚朴酚类药物奠定基础。此外，组培技术是基因工程技术的基础，将在木兰科植物基因功能验证、品种改良与优良新品种选育等方面发挥更大的作用。

参考文献：

ABDELMAGEED AH, FARIDAH QZ, JULIA AA, et al., 2012. Callus induction and plant regeneration of *Michelia champaca* (Magnoliaceae): A multipurpose tree [J]. J Med Plants Res, 6(17): 3338-3344.

ARMIYANTI, 2012. Establishment of plant regeneration of *Michelia champaca* L. through cell suspension culture technique [J]. J Med Plants Res, 6(8): 1394-1402.

CHEN F, CHEN Q, CHEN J, 2005. Tissue culture of *Parakmeria yunnanensis* [J]. Plant Physiol Comm, 4: 494. [陈芳，陈强，陈娟，2005. 云南拟单性木兰的组织培养[J]. 植物生理学通讯，4：494.]

CHEN JH, 2003. Studies on the somatic embryogenesis of *Liriodendron*×sinoamericanum [D]. Jiangsu: Nanning Forestry University. [陈金慧，2003. 杂交鹅掌楸体细胞胚胎发生研究[D]. 南京：南京林业大学.]

CHEN JH, SHI JS, 2002. Rooting and transplant techniques tissue culture of *Liriodendron chinense* [J]. Chin For Sci Technol, 16(5): 21-22. [陈金慧，施季森，2002. 鹅掌楸组培苗的生根及移栽技术[J]. 林业科技开发，16(5)：21-22.]

CHEN JH, ZHANG YJ, WU YY, et al., 2013. Effects of phytosulfokine on the somatic embryogenesis of *Liriodendron* hybrids (*L. chinense* × *L. tulipifera*) [J]. Sci Silv Sin, 49(2): 33-38. [陈金慧，张艳娟，吴亚云，等，2013. 植物磺肽素在杂交鹅掌楸体胚发生中的作用[J]. 林业科学，49(2)：33-38.]

CHEN TL, MENG Y, CHEN JH, et al., 2017. Effects of methyl jasmonic acid on somatic embryogenesis of *Liriodendron* hybrid [J]. J Nanjing For Univ, 41(6): 41-46. [成铁龙，孟岩，陈金慧，等，2017. 茉莉酸甲酯对杂交鹅掌楸体胚发育的影响[J]. 南京林业大学学报，41(6)：41-46.]

CHEN WJ, GONG XS, WANG LB, 2005. Preliminary study on propagation techniques in *Michelia chapensis* [J]. Nonwood For Res, 4: 62-64. [陈卫军，龚洵胜，王利宝，2005. 乐昌含笑繁殖初探[J]. 经济林研究，4：62-64.]

CORTAZAR CA, ROSAS MM, OYAMA K, et al., 2020. Induction of somatic embryogenesis and evaluation of genetic stability in regenerated plants of *Magnolia dealbata* [J]. Biol Plantarum, 64(48): 224-233.

CUI, YUAN, YANWEN, et al., 2019. An efficient micropropagation protocol for an endangered ornamental tree species (*Magnolia sirindhorniae* Noot. & Chalermglin) and assessment of

genetic uniformity through DNA markers [J]. Sci Rep, 9(1): 9634-9634.
DENG YW, LIN JY, WU QN, et al., 2018. Overview in tissue culture of Magnolia [J]. For Environ Sci, 34(5): 118-124. [邓演文，林洁莹，吴乔娜，等，2018. 木兰属植物组织培养技术研究综述[J]. 林业与环境科学，34(5)：118-124.]
DOMÍNGUEZ F, CHÁVEZ M, GARDUÑO-RAMÍREZ ML, et al., 2010. Honokiol and magnolol production by *in vitro* micropropagated plants of *Magnolia dealbata*, an endangered endemic Mexican species [J]. Nat Prod Commun, 5(2): 235-240.
DU FG, DIAO SQ, WANG H, et al., 2006. Tissue culture of *Magnolia sieboldii* K. Koch [J]. J NE For Univ, 2: 42-43. [杜凤国，刁绍起，王欢，等，2006. 天女木兰的组织培养[J]. 东北林业大学学报，2：42-43.]
DU T, SANG Y, YANG H, et al., 2013. The studies on technologies for quick propogation and callus induction of *Michelia yunnanensis* [J]. J Yuannan Agric Univ, 28(4): 530-535. [都婷，商雨，杨辉，等，2013. 云南含笑组织培养快繁技术及愈伤组织诱导研究[J]. 云南农业大学学报，28(4)：530-535.]
FENG L, WANG YG, WEN YY, et al., 2017. Effects of nano carbon on the growth and differentiation of several plants *in vitro* culture [J]. Biotechnol Bull, 33(4): 164-168. [冯璐，王玉国，温银元，等，2017. 纳米碳对离体培养条件下几种植物生长及分化的影响[J]. 生物技术通报，33(4)：164-168.]
FOLGADO R, PANIS B, 2019. Cryopreservation of Ashe *Magnolia* shoot tips by droplet-vitrification [J]. Acta Hortic, 1234: 233-240.
FU XY, LI H, YU GY, et al., 2009. Callus induction of *Magnolia obovata* [J]. J NW For Univ, 24(1): 71-73. [付晓云，李慧，于光艳，等，2009. 日本厚朴愈伤组织诱导的研究[J]. 西北林学院学报，24(1)：71-73.]
GAN L, LI K, WANG XQ, et al., 2010. Tissue culture of *Parakmeria yunnanensis* Hu [J]. J Guangxi Agric Sci, 41(3): 210-212. [甘露，李凯，王小青，等，2010. 云南拟单性木兰组织培养初步研究[J]. 广西农业科学，41(3)：210-212.]
GAO HB, DU FG, WANG H, 2017. Effects of browning inhibitors on bud explants browning and phenolic acids oxidation of *Magnolia sieboldii* K.Koch [J]. For Sci Res, 30(3): 525-532. [高红兵，杜凤国，王欢，2017. 抗褐化剂对天女木兰芽外植体褐化与酚酸氧化的影响[J]. 林业科学研究，30(3)：525-532.]
GUO ZY, XIAO GX, LONG YX, et al., 2008. Tissue culture and *in vitro* rapid propagation of the rare plant *Liriodendron chinense* [J]. Pract For Technol, 4: 42-43. [郭治友，肖国学，龙应霞，等，2008. 珍稀植物鹅掌楸组织培养与离体快繁技术[J]. 林业实用技术，4：42-43.]
HE PQ, FANG XP, YI Y, 2010. Optimization of induction condition for callus of M*agnolia officinalis* [J]. Guizhou Agric Sci, 38(7): 20-21. [何培琦，方小平，乙引，2010. 厚朴愈伤组织诱导条件的优化[J]. 贵州农业科学，38(7)：20-21.]
HUANG SY, YANG Y, CHE Z, et al., 2013. Study on the callus initiation culture of *Magnolia* shoots [J]. J Agric, 3(8): 41-46. [黄树军，杨阳，车志，等，2013. 厚朴苗愈伤组织启动培养研究[J]. 农学学报，3(8)：41-46.]
JIN LL, ZHANG LP, 2018. Studies on tissue culture of stem sections in *Magnolia officinalis* var. *pubescens* [J]. For Prod Special Chin, 5: 24-25. [金丽丽，张丽萍，2018. 厚朴茎段的组织培养[J]. 中国林副特产，5：24-25.]
JONES AM, SAXENA PK, 2013. Inhibition of phenylpropanoid biosynthesis in *Artemisia annua* L.: A novel approach to reduce oxidative browning in plant tissue culture [J]. PLoS ONE, 8

(10): e76802.

KAMENICKA A, 1998. Influence of selected carbohydrates on rhizogenesis of shoots saucer *Magnolia in vitro* [J]. Acta Physiol Plant, 20(4): 425-429.

KAMENICKA A, LANAKOVA M, 2000. Effect of medium composition and type of vessel closure on axillary shoot production of *Magnolia in vitro* [J]. Acta Physiol Plant, 22(2): 129-134.

KIM TD, KIM JA, LEE NN, et al., 2020. Multiple shoot induction and plant regeneration from axillary buds of *Magnolia* ‘Vulcan’ [J]. J Plant Biotechnol, 47(1): 40-45.

KIM YW, PARK SY, PARK IS, et al., 2007. Somatic embryogenesis and plant regeneration from immature seeds of *Magnolia obovata* Thunberg [J]. Plant Biotechnol Rep, 1(4): 237-242.

KONG YY, 2018. Evaluation of Magnoliaceae plant resources and construction of magnolia garden in Hainan Island [D]. Haikou: Hainan University.[孔焱焱，2018. 海南岛木兰科植物资源评价与木兰园的建设[D]. 海口：海南大学.]

KONPKOVA J, KOUTOVA D, FERUS P, 2020. Genotype-specific requirements for *in vitro* culture initiation and multiplication of *Magnolia* taxa [J]. Folia Oecol, 47(1): 34-44.

LAI YC, LEE WC, 1994. The initiation of callus culture of *Michelia champaca* for essential oil production [J]. Biotechnol Lett, 16(1): 85-88.

LI GR, LIU YB, LIU WJ, 2013. Study on the callus and embryoid induction of anther of *Magnolia denudata* [J]. N Hortic, 3: 99-101. [李桂荣，刘玉博，刘婉君，2013. 白玉兰花药愈伤组织以及胚状体诱导的研究[J]. 北方园艺，3：99-101.]

LI X, WANG SF, JIANG XH, 2005. Tissue culture and plantlet regeneration of *Michelia macclurei* Dandy [J]. Plant Physiol Comm, 6: 783. [李雪，王淑芬，蒋雄辉，2005. 醉香含笑的组织培养与植株再生[J]. 植物生理学通讯，6：783.]

LI Y, WANG Q, LI HY, et al., 2005. Tissue culture of 3 species of *Magnolia* L. [J]. Plant Physiol Comm, 5: 84. [李艳，王青，李洪艳，等，2005. 3 种玉兰的组织培养[J]. 植物生理学通讯，5：84.]

LIANG GY, WEN F, WEI YG, 2012. Study on the germplasm resources of wild *Magnolia* and their landscape application in Guangxi [J]. N Hortic, 10: 117-122. [梁桂友，温放，韦毅刚，2012. 广西野生木兰科植物种质资源及其园林应用[J]. 北方园艺，10：117-122.]

LIU F, HUANG YL, ZHU YZ , et al., 2011. Rapid propagation technique of tissue culture of *Michelia yunnanensis* [J]. Yunnan Agric Sci Technol, 2: 12-13. [刘芳，黄玉玲，朱跃珍，等，2011. 云南含笑组织培养快繁技术[J]. 云南农业科技，2：12-13.]

LIU JL, MA MD, 2007. Study on browning of endangered *Manglietiastrum sinicum* in tissue culture [J]. J Zhejiang For Sci Technol, 1: 20-23. [刘均利，马明东，2007. 华盖木组织培养中褐化控制研究[J]. 浙江林业科技，1：20-23.]

LIU Y, 2021. Tissue culture via seed embryo for *Michelia macclurei* [J]. Bull Bot Res, 41(1): 79-88. [刘英，2021. 火力楠种胚组培快繁研究[J]. 植物研究，41(1)：79-88.]

LIU YH, ZHOU RZ, ZENG QW, 1997. Ex situ conservation of Magnoliaceae including its rare and endangered species [J]. J Trop Subtrop Bot, 5(2): 1-12. [刘玉壶，周仁章，曾庆文，1997. 木兰科植物及其珍稀濒危种类的迁地保护[J]. 热带亚热带植物学报，5(2)：1-12.]

LIU YM, ZHAO BQ, ZENG T, 2008. Induction of *Magnolia officinalis* Rehd.et Wils. var. *biloba* Rehd.et Wils. callus and contents of active components in callus from different sources [J]. J China Pharm, 19(18): 1393-1395. [刘叶蔓，赵碧清，曾婷，2008. 凹叶厚朴愈伤组织的诱导及其有效成分含量的比较[J]. 中国药房，19(18)：1393-1395.]

LU XJ, DONG Y, JIN YR, et al., 2009. Tissue culture of *Magnolia liliflora* Desr. [J]. N Hortic, 11: 189-191. [陆秀君，董阳，金亚荣，等，2009. 紫玉兰的组织培养[J]. 北方园艺，11：189-191.]

LU XJ, XU S, LI TL, et al., 2008. Embryo culture and rapid propagation of *Magnolia sieboldii* [J]. J NE For Univ, 3: 5-7. [陆秀君，徐石，李天来，等，2008. 天女木兰幼胚离体培养及组织快繁[J]. 东北林业大学学报，3：5-7.]

LUO ZQ, LIU L, ZHOU DG, 2010. Experimental research on callus induction and embryoid body formation of *Magnolia liliflora* Desr [J]. Mod Agric Sci Technol, 20: 221. [罗在柒，刘兰，周大刚，2010. 紫玉兰愈伤组织的诱导及胚状体获得试验研究[J]. 现代农业科技，20：221.]

MA YZ, XU H, WANG ZY, et al., 2014. Establishment of rapid propagation system of *Magnolia officinalis* subsp. *biloba*[J]. Chin Tradit Herbal Drugs, 45(12): 1769-1774. [马英姿，许欢，王志毅，等，2014. 凹叶厚朴快繁技术体系的建立[J]. 中草药, 45(12)：1769-1774.]

MARIA R, 2012. Comparative study on the *in vitro* multiplication potential of *Magnolia stellata* and *Magnolia* × *soulangiana* species [J]. J Hortic For, 16(2): 39-44.

MENG X, 2005. Tissue culture and rapid propagation of *Magnolia denudata* [J]. Plant Physiol Comm, 41(3): 339. [孟雪，2005. 白玉兰的组织培养和快速繁殖[J]. 植物生理学通讯，41(3)：339.]

MERKLE SA, WATSON BA, 1993. Regeneration of bigleaf *Magnolia* by somatic embryogenesis [J]. Hort Sci, 28(6): 672-673.

MERKLE SA, WATSON BA, 1994. *Ex vitro* conversion of pyramid *Magnolia* somatic embryos [J]. Hort Sci, 29(10): 1186-1188.

MERKLE SA, WIECKO AT, 1990. Somatic embryogenesis in three *Magnolia* species [J]. J Am Soc Hortic Sci, 115(5): 858-860.

MIN W, CHEN ZP, 2007. Plantl regeneration of *Michelia wilsoni*i Finet et Gagnep. *in vitro* [J]. Plant Physiol Comm, 3: 519-520. [闵炜，陈志萍，2007. 峨眉含笑试管培养再生植株[J]. 植物生理学通讯，3：519-520.]

NING Y, JIN XL, CHEN J, et al., 2015. Study on axillary bud induction of stem segments of *Parakmeria lotungensis* [J]. Mod Hortic, 5: 3-4. [宁阳，金晓玲，陈洁，等，2015. 乐东拟单性木兰茎段腋芽诱导研究[J]. 现代园艺，5：3-4.]

PARK IS, KOISO M, MORIMOTO S, et al., 2012. Plant regeneration by somatic embryogenesis from mature seeds of *Magnolia obovata* [J]. J Wood, 58(1): 64-68.

PARRIS JK, TOUCHELL DH, RANNEY TG, et al., 2012. Basal salt composition, cytokinins, and phenolic binding agents influence *in vitro* growth and *ex vitro* establishment of *Magnolia* ‘Ann’ [J]. Hort Sci, 47(11): 1625-1629.

QIAO MJ, 2013. Tissue culture of rare species *Manglietia glauca* in Guangxi [J]. J S Agric, 44(6): 989-993. [乔梦吉，2013. 广西优良珍贵树种灰木莲的组织培养[J]. 南方农业学报，44(6)：989-993.]

REN GP, WANG XJ, ZHU GF, 2016. Effect of LED in different light qualities on growth of *Phalaenopsis plantletse* [J]. Bull Bot, 51(1): 81-88. [任桂萍，王小菁，朱根发，2016.不同光质的 LED 对蝴蝶兰组织培养增殖及生根的影响[J]. 植物学报，51(1)：81-88.]

ROSAS M, JIMÉNEZ-RODRÍGUEZ Á, CHÁVEZ-AVILA VM, 2006. Somatic embryogenesis and organogenesis in *Magnolia dealbata* Zucc.(Magnoliaceae), an endangered, endemic Mexican species [J]. Hort Sci, 41(5): 1325-1329.

SAELEAW T, BENJAKUL S, SIMPSON BK, 2017. Effect of catechin and its derivatives on inhibition of polyphenoloxidase and melanosis of Pacific white shrimp [J]. J Food Sci Technol, 54 (5): 1-10.

SHUKLA S, 2014. Callus induction of *Michelia champaca* L., through petiole-an aromatic tree of high economic value [J]. Inter J Enhanc Res Sci Technol Eng, 3(1): 438-442.

SOKOLOV RS, ATANASSOVA BY, IAKIMOVA ET, 2014. Physiological response of *in vitro* cultured *Magnolia* sp. to nutrient medium composition [J]. J Hort Res, 22(1): 49-61.

SOKOLOV RS, ATANASSOVA BY, IAKIMOVA ET, 2015. Influence of iron sources in the nutrient medium on *in vitro* shoot multiplication and rooting of *Magnolia* and cherry plum [J]. J Hort Res, 23(2): 27-38.

SONG HF, LIU HP, 2014. Plant resources and utilization of Magnoliaceae [J]. Agric Technol, 34(7): 107. [宋怀芬，刘会萍，2014. 木兰科植物资源及其利用[J]. 农业与技术，34(7)：107.]

SONG XC, CHEN QQ, DAI XY, et al., 2014. Rooting mechanism research of tissue culture based on micro-anatomy in *Michelia crassipes* [J]. Jiangxi For Sci Technol, 42(3): 1-4. [宋晓琛，程强强，戴小英，等，2014. 紫花含笑组培苗生根解剖机理研究[J]. 江西林业科技，42(3)：1-4.]

SUN MH, AN NA, ZHOU Q, et al., 2012. Study on callus induction and establishment of regeneration system for *Magnolia sieboldii* [J]. Chin Hortic Abs, 4: 6-8. [孙铭鸿，安娜，周清，等，2012. 天女木兰嫩茎愈伤组织诱导及再生体系建立研究[J]. 中国园艺文摘，4：6-8.]

SUN XB, SU JL, CHEN SS, et al., 2020. Plantlet regeneration from leaves of tissue culture seedlings of *Hydrangea macrophylla* ‘Endless Summer’ [J]. Chin Agric Sci Bull, 36(16): 67-72. [孙晓波，苏家乐，陈双双，等，2020. 大花绣球‘无尽夏’组培苗叶片再生植株的研究[J]. 中国农学通报，36(16)：67-72.]

TAN XM, LIU M, WAN ZZ, et al., 2018. Native plant resources of Magnoliaceae in Yunnan and their application in landscape architecture [J]. Mod Hortic, 14: 119-120. [谭秀梅，刘敏，万珠珠，等，2018. 云南木兰科(Magnoliaceae)乡土植物资源及其园林应用现状[J]. 现代园艺，14：119-120.]

TAN ZF, HONG YH, HU C, 2003. *In vitro* culture of *Magnolia grandiflora* [J]. J Hunan Agric Univ, 29(6): 478-481. [谭泽芳，洪亚辉，胡超，2003. 广玉兰的离体培养研究[J]. 湖南农业大学学报，29(6)：478-481.]

TANG JR, GAO Z, LIU TY, et al., 2014. Selection and disinfection methods of explants of *Magnolia delavayi* in tissue culture [J]. Guizhou Agric Sci, 42(11): 42-45. [唐军荣，高柱，刘腾云，等，2014. 红花山玉兰组织培养外植体的选择及其消毒方法[J]. 贵州农业科学，42(11)：42-45.]

WANG H, DU FG, ZHANG ZX, 2012. Study on browning controlling of *Magnolia sieboldii* in tissue culture [J]. Hubei Agric Sci, 51 (14): 3107-3109. [王欢，杜凤国，张志翔，2012. 天女木兰组织培养的抗褐化研究[J]. 湖北农业科学，51 (14)：3107-3109.]

WANG H, DU Y, WANG ZM, et al., 2013. Propagation techniques of softwood cutting of *Magnolia sieboldii* [J]. For Sci Technol, 38(4): 45-47. [王欢，杜悦，王子明，等，2013. 天女木兰嫩枝扦插繁殖技术[J]. 林业科技，38(4)：45-47.]

WANG Q, WANG ZZ, LI YL, 2001. Study on tissue culture of *Magnolia grandiflora* L.[J]. NW Pharm J, 16(1): 11-13. [王琪，王喆之，李映丽，2001. 荷花玉兰组织培养的研究[J]. 西

北药学杂志，16(1)：11-13.]
WANG Q, DENG LL, WANG L, 2009. Study on tissue culture of *Magnolia delavayi* var. rubra(f.rubra) [J]. Shandong For Sci Technol, 39(1): 33-34. [王奇，邓莉兰，王丽，2009. 红花山玉兰组织培养研究[J]. 山东林业科技，39(1)：33-34.]
WANG QY, TANG JN, LIU ZG, et al., 2017. Explant selecting and anti-browning of *Magnolia sinostellata* in tissue culture [J]. Guihaia, 37(9): 1088-1095. [王倩颖，唐佳妮，刘志高，等，2017. 景宁木兰组织培养外植体选择与抗褐化研究[J]. 广西植物，37(9)：1088-1095.]
WANG SY, LU JM, ZHU TH, 2017. *In vitro* culture of young stem segments of dwarf *Magnolia grandiflora* [J]. Shanghai Agricl Sci Technol, 1: 76-77. [王水燕，陆锦明，朱天华，等，2017. 小叶矮生型广玉兰嫩茎段离体培养方法[J]. 上海农业科技，1：76-77.]
WOJTANIA A , SKRZYPEK E , MARASEK-CIOLAKOWSKA A, 2019. Soluble sugar, starch and phenolic status during rooting of easy- and difficult-to-root magnolia cultivars [J]. Plant Cell, Tissue Organ Cult, 136: 499–510.
WOJTANIA A, SKRZYPEK E, GABRYSZEWSKA E, 2015. Effect of cytokinin, sucrose and nitrogen salts concentrations on the growth and development and phenolics content in *Magnolia*× *soulangiana* ‘Coates’ shoots *in vitro* [J]. Acta Sci Pol-Hort Cultus, 14(3): 51-62.
WU YY, LIU XL, WANG CS, 2007. Root induction during tissue culture of *Michelia chapensis* Dandy [J]. Acta Hortic Sin, 4: 991-994. [吴月燕，刘秀莲，汪财生，2007. 乐昌含笑组织培养过程中根的诱导[J]. 园艺学报，4：991-994.]
WU YY, YUAN DM, 2001. Study on the induction and differentiation conditions of bud and callus in vitro culture of *Michelia chapensis* Dandy [C]//Proceedings of the Ninth Annual Meeting of Zhejiang Horticultural Society. Ningbo: Zhejiang Horticultural Society: 219-223. [吴月燕，袁东明，2001. 乐昌含笑离体培养中芽和愈伤组织诱导与分化条件的研究[C]//浙江省园艺学会第九届年会论文集. 宁波：浙江省园艺学会：219-223.]
XIANG GF, YAN LH, JIANG LY, et al., 2019. Morphological and germination characteristics of *Parakmeria lotungensis* seeds from different provenances [J]. Chin Agric Sci Bull, 35(11): 61-64. [向光锋，颜立红，蒋利媛，等，2019. 不同种源地乐东拟单性木兰种子的形态特征及萌发特性研究[J]. 中国农学通报，35(11)： 61-64.]
XIE YY, WEI M, XIE DJ, et al., 2017. Study on the preparation of callus of *Magnolia officinalis* using on cell suspension culture [J]. J Hunan Univ Chin Med, 37(4): 365-368. [谢燕燕，卫梅，谢德金，等，2017. 凹叶厚朴用于细胞悬浮培养的愈伤组织的制备研究[J]. 湖南中医药大学学报，37(4)：365-368.]
XU S, LU XJ, LI TL, 2008. Studies on tissue culture of *Magnolia sieboldii* to get bacteria-free explants [J]. J NW For Univ, 22(3): 127-129. [徐石，陆秀君，李天来，2008. 天女木兰组织培养中有效获得无菌外植体的研究[J]. 西北林学院学报，22(3)：127-129.]
YANG CH, DENG XL, ZHOU JW, 2017. Study on the resources and ornamental characteristics of the native Magnoliaceaes in Guizhou Province [J]. Guizhou For Sci Technol, 45(4): 19-23. [杨成华，邓伦秀，周家维，2017. 贵州原生木兰科植物资源与观赏特性研究[J].贵州林业科技，45(4)：19-23.]
YANG M, LIU C,XIANG MD, et al., 2017. Explant initiation culture of endangered plant *Magnolia monocytogenes*[J]. Mod Hortic, 13: 3-4.[杨梅，刘畅，向梦迪，等，2017. 濒危植物单性木兰外植体启动培养[J]. 现代园艺，13： 3-4.]
YOU R, WANG LL, CAO LY, et al., 2019. Preliminary study on stem segment tissue culture of

Manglietia decidua [J]. Mod Hortic, 42(17): 3-5. [尤润，王玲玲，曹璐瑶，等，2019. 华木莲茎段组织培养初探[J]. 现代园艺，42(17)：3-5.]

YU XJ, 2016. Preliminary study on establishment of *Magnolia sieboldip*’s gentic transformation regeneration system [D]. Shenyang: Shenyang Agricultural University. [于新杰，2016. 天女木兰遗传转化再生体系建立初步探究[D]. 沈阳：沈阳农业大学.]

ZENG SJ, PENG XM, ZENG QW, 2000. Tissue culture and rapid propagation of *Michella maudlae* [J]. J Trop Subtrop Bot, 3: 264-268. [曾宋君，彭晓明，曾庆文，2000. 深山含笑的组织培养和快速繁殖[J]. 热带亚热带植物学报，3：264-268.]

ZHANG G, ZHU ZR, HAN TS, et al., 2016. Study on preservation technology of *Parakmeria lotungensis* antique tree germplasm resource [J]. Seed, 35(2): 55-58. [张果，朱忠荣，韩堂松，等，2016. 乐东拟单性木兰(*Parakmeria lotungensis*)古树种质资源保存技术研究[J]. 种子，35(2)：55-58.]

ZHANG J, HU YH, ZHANG HB, et al., 2020. Micropropagation of *Dendrobium nobile* seedlings using temporary immersion bioreactor system [J]. J Agric Sci Technol, 22(10): 181-187. [张杰，胡燕花，张本厚，等，2020. 利用间歇浸没式植物生物反应器培养金钗石斛种苗[J]. 中国农业科技导报，22(10)：181-187.]

ZHAO SF, 2009. Influence of different hormone combination on the petal callus induction of *Lily magnolia* [J]. Heilongjiang Agric Sci, 2: 12-13. [赵松峰，2009. 不同激素组合对辛夷花瓣愈伤组织诱导的影响[J]. 黑龙江农业科学，2：12-13.]

ZHENG KY, 2017. Preliminary study on tissue culture of *Manglietia lucida* B.L. Chen et S. C. Yang etc. several species *Magnolia* [D]. Guangzhou: South China Agricultural University. [郑珂媛，2017. 亮叶木莲等珍稀木兰科植物组织培养技术研究[D]. 广州：华南农业大学.]

ZHOU LH, XU CY, ZENG L, et al., 2002. *Magnolia liliflora* Desr. tissue foster generation [J]. Econ For Res, 4: 37-38. [周丽华，许冲勇，曾雷，等，2002. 紫玉兰组织培养繁殖研究[J]. 经济林研究，4：37-38.]

ZHOU LL, GUO ZQ, QIN ZY, et al., 2008. Browning control during tissue culture of *Magnolia denudata* Desr.[J]. J Hebei Norm Univ Sci Technol, 22(4): 19-22. [周丽艳，郭振清，秦子禹，等，2008. 白玉兰组织培养中的褐化控制[J]. 河北科技师范学院学报，22(4)：19-22.]

ZHOU SN, 2007. Study on the application of *Magnolia* family plants to the city gardens in Anhui province [D]. Hefei: Anhui Agricultural University. [周盛楠，2007. 木兰科植物在安徽省城市园林绿化中的应用研究[D]. 合肥：安徽农业大学.]

ZHU BH, HUANG BX, HUANG WC, et al., 2009. Study on tissue culture technique for *Michelia crassipes* Law [J]. J Anhui Agric Sci, 37(29): 14024-14027. [朱碧华，黄宝祥，黄文超，等，2009. 紫花含笑的组织培养技术研究[J]. 安徽农业科学，37(29)：14024-14027.]